

短时间热胁迫对疏叶骆驼刺光系统II、Rubisco活性和活性氧化剂的影响

薛伟^{1,2,3,4} 李向义^{1,3,4*} 林丽莎^{1,3,4} 王迎菊^{1,2,3,4} 李磊^{1,2,3,4}

¹中国科学院新疆生态与地理研究所, 乌鲁木齐 830011; ²中国科学院研究生院, 北京 100049; ³新疆策勒荒漠草地生态系统国家野外科学观测研究站, 新疆策勒 848300; ⁴中国科学院干旱区生物地理与生物资源重点实验室, 乌鲁木齐 830011

摘要 生长在温带沙漠地区的植物在夏季时常遭受正午短时间的高温胁迫, 频繁和骤然的热胁迫在很大程度上限制了荒漠植物的光合作用。以塔克拉玛干沙漠南缘防风固沙的优势植物疏叶骆驼刺(*Alhagi sparsifolia*)为材料, 分别用叶绿素荧光诱导动力学和CO₂响应方法分析热胁迫后光系统II (PSII)和RuBP羧化酶的热稳定性。结果表明: (1)在叶片温度超过43 °C后PSII最大光化学量子产量、有活性反应中心数目、活力指数均出现明显的降低; 中高温下PSII的电子供体侧比电子受体侧组分更容易受到热胁迫的伤害; 在58 °C出现明显的K点(300 μs), 说明放氧复合体放氧结构受到破坏而失去活性。(2)随着叶片温度的上升, Rubisco活性先升高后降低, 在34 °C时具有最高的活性水平。(3)叶片受到高温胁迫时, 细胞内氨态氮和活性氧分子等大量积累。(4)疏叶骆驼刺叶片处于短时间的高温环境时, 光合作用的光反应和暗反应阶段均表现出功能的不稳定性, 其中PSII和Rubisco是主要的热敏感位点。

关键词 Rubisco活性, 疏叶骆驼刺, 热胁迫, 光系统II, 活性氧化剂

Effects of short time heat stress on photosystem II, Rubisco activities and oxidative radicals in *Alhagi sparsifolia*

XUE Wei^{1,2,3,4}, LI Xiang-Yi^{1,3,4*}, LIN Li-Sha^{1,3,4}, WANG Ying-Ju^{1,2,3,4}, and LI Lei^{1,2,3,4}

¹Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Ürümqi 830011, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Cele National Station of Observation & Research for Desert Grassland Ecosystem, Cele, Xinjiang 848300, China; and ⁴Key Laboratory of Biogeography and Bioresource in Arid Land, Chinese Academy Sciences, Ürümqi 830011, China

Abstract

Aims Our general objective was to determine the effects of short time heat stress on photosystem II (PSII) activity and Rubisco activity in *Alhagi sparsifolia*. Specifically, we wanted to determine that temperature range within which the plant can photosynthesize, the critical temperature that damaged leaves and characters of reactive oxidative accumulation under high temperature.

Methods Samples of *A. sparsifolia* were collected on a sunny morning with low winds in early August 2010. We selected healthy growing shoots randomly, washed them lightly to remove leaf dust, cut and quickly inserted them into damp soil and covered them with a plastic cover. Samples were immediately put into black plastic bags, which contained damp filter papers. The bags were placed into a heat-resistant case for transport to the laboratory and then immersed in water baths for 15 min at temperatures of 30, 38, 43, 48, 53, 58 and 63 °C. Twenty intact and mature leaves were used to measure leaf fluorescence and CO₂ response curves at each temperature.

Important findings At leaf temperatures up to 43 °C, the maximum photochemical efficiency of PSII, number of active reaction centers and leaf vitality index all decreased markedly. At moderately high temperatures, the electron donors of PSII were more heat-vulnerable than the electron acceptors of PSII, and the appearance of fluorescence K point (300 μs) in the fluorescence curve at 58 °C indicated that the structure of oxygen-evolving complexes was damaged, resulting in loss of oxygen-evolving function. At higher leaf temperatures, the activity of Rubisco first increased and then decreased, with a maximum at 34 °C. Under high temperature stress, considerable oxidative radicals, e.g., ammoniacal nitrogen, H₂O₂ and O₂⁻ were produced and continually accumulated in cells. We conclude that heat stress has strong impacts on both light reaction and dark reaction phases of photosynthesis, especially their two heat sensitive components comprised of PSII and Rubisco.

Key words activation of Rubisco, *Alhagi sparsifolia*, heat stress, photosystem II, oxidative radical

在未来几十年内, 如果全球升温超过2–3 °C, 那么有20%–30%的物种将面临灭绝, 并对生态系统的结构和功能产生负面影响。寒区和旱区生态系统最容易受到气候变化的影响(IPCC, 2007)。局部地区发生极端天气的概率逐渐升高。随着全球环境变化, 我国西北地区气候正面临从干热到湿热型转变, 而且年平均气温呈现不断升高的趋势(施雅风和沈永平, 2003)。温度升高到一定阈值, 势必导致植物生理代谢的紊乱和结构功能的失调, 降低叶片的光合效率, 进而减少净初级生产力。

研究表明, 高温胁迫下叶片净光合速率的降低往往是非气孔因素所致(许大全和沈允钢, 1998)。其中, 以对由蛋白复合体组成的光合器官结构和功能的破坏影响为主(Schreiber & Berry, 1977; Wise *et al.*, 2004)。在光合器官中, 光系统II (PSII)的热稳定性最弱(Čajánek *et al.*, 1998; Tang *et al.*, 2007)。主要表现在PSII的捕光色素系统、电子传递链和放氧复合体等多个位点的结构和功能的改变。构成捕光色素系统的捕光色素蛋白在高温下变性降解, 特别是外周天线蛋白相比于核心天线更容易遭到破坏, 降低对光量子的吸收量。PSII反应中心由多肽蛋白D1-D2组成, 其中包括: 原初电子供体、中心色素P680、原初电子受体。最明显的是D1蛋白在位点的脱落, 往往会造成修复性损伤。在PSII供体侧, 热胁迫发生损害时外源蛋白PsbO和Mn²⁺由固定位点脱落, 使得放氧复合体放氧活性降低(Komayama *et al.*, 2007)。高温胁迫引起的膜脂过氧化过程中, 诱导产生O₂⁻、H₂O₂等活性氧分子的积累。Pospíšil等(2007)研究表明, 暗适应的菠菜(*Spinacia oleracea*)叶片PSII粒子膜在热胁迫下产生活性氧、OH[·]和单态氧(¹O₂)。活性氧可以氧化不饱和脂肪酸, 降低其饱和度, 进而影响膜脂的流动性。光合作用光反应阶段在类囊体膜上进行, 类囊体膜的流动性影响由多酶复合体和叶绿素构成的PSII的稳定性。因此, O₂⁻、H₂O₂等含量的增加, 势必会对光合系统的功能结构造成潜在的破坏。

Musil等(2009)通过模拟长时间全球气温上升对南非肉质植物生长特性的影响的研究发现, 高于当地白天最高温度54 °C的模拟温度持续2 h后叶片

Rubisco活性明显降低, 而在42 °C后PSII电子传递链传递电子的功能降低。也就是说, PSII相比于Rubisco具有更大的热敏感度。但是, 也有研究指出在中度热胁迫下叶片光合速率的降低主要归因于RuBP羧化酶活性的钝化, 并且在中高温度下PSII最大光化学量子产量(F_v/F_m)并不受到影响(Crafts-Brandner & Salvucci, 2002; Haldimann & Feller, 2004; Sharkey, 2005)。在考虑到叶片光合速率的限制因子碳同化羧化阶段时, RuBP浓度和Rubisco羧化效率是影响光合速率的两个主要方面。Kubien和Sage (2008)认为如果Rubisco的含量降低而剩余部分仍保持较高的活性水平, 则在中度热胁迫下Rubisco羧化效率不会降低。那么, 在此温度下光合速率的减少应该是由光反应阶段的电子传递效率的降低所致。热胁迫伤害对PSII的影响是多个位点同时发生的。同时, 较多的研究指出, 在胁迫条件下 F_v/F_m 不能提供关于PSII活性变化的有效性信息, 而非调制荧光仪在极短的时间内(1 s)获得大量关于PSII反应中心原初光化学反应的动态变化信息, 能够更准确地反映植物光合机构的状况; JIP-test参数对胁迫比 F_v/F_m 的变化更灵敏, 能更好地指示胁迫对PSII结构和功能的影响(Appenroth *et al.*, 2001; van Heerden *et al.*, 2003, 2004; Oukarroum *et al.*, 2007)。 F_v/F_m 代表着原初光化学反应的最大光化学量子产量, 因此, 我们考虑 F_v/F_m 作为衡量PSII活性的单一指标是不确切的。当叶片温度的升高超过适宜温度之后, 类囊体膜的光合代谢便会发生功能上的可逆性活性降低。但是随着温度的继续增加, 光合器官特别是PSII位点会受到不可逆的损伤。不同温度条件诱导的类囊体膜光合结构的改变, 将会影响叶绿素荧光产量, 表现在荧光动力学曲线上不同时间节点的数值降低或升高。

植物叶片有效调节叶表温度的途径往往是以蒸腾潜热耗散的形式为主。生长在高温强光下的植物大多具有旺盛的蒸腾作用, 由于蒸腾而使叶片温度比气温低。但当荒漠植物夏季正午处在强辐射和干旱的环境时, 叶片气孔导度往往会降低, 甚至气孔关闭, 使得蒸腾速率下降, 植物失去蒸腾散热能力, 使得叶片温度急剧上升, 有时叶片温度可以达

到37 °C以上。叶片的蒸腾冷却作用使得疏叶骆驼刺(*Alhagi sparsifolia*) (以下简称骆驼刺)正午前后叶片温度变化在35–40 °C。因此,在极端环境下探究骆驼刺等荒漠植物叶片能量平衡所要涉及正午的高温和蒸腾所致的变动的叶片温度二因素时,热胁迫是必须要考虑的因素。为此,本研究通过试验以期明确以下问题:高温如何影响骆驼刺叶片PSII活性和Rubisco活性;光合生理的适宜和最高温度阈值;活性氧化剂的积累特点。

1 材料和方法

1.1 研究地概况和样地描述

试验在中国科学院策勒荒漠草地生态系统国家野外研究站荒漠实验区进行。研究区位于塔南策勒绿洲外围的绿洲-沙漠过渡带间(35°17'55"–39°30'00" N, 80°03'24"–82°10'34" E)。该研究区属典型内陆暖温带荒漠气候。年平均气温11.9 °C,极端最高气温41.9 °C,极端最低气温–23.9 °C;多年平均降水量约为34.4 mm,而潜在蒸发量高达2 595.3 mm。光热资源丰富:平均日照时数2 697.5 h,年太阳总辐射能604.2 kJ·cm⁻²。骆驼刺在绿洲-荒漠过渡带广泛分布,是当地的主要建群种之一(Li *et al.*, 2002)。

1.2 试验设计和样本采集

在2010年8月上旬晴朗无风的早晨,选择策勒绿洲-沙漠过渡带的优势植物骆驼刺。随机选择生长良好的不同克隆株的一年生枝条,用蒸馏水洗净叶表灰尘,然后剪下枝条并迅速插入湿润的土团,用塑料包上,立即放入铺有湿润滤纸的黑塑料袋中(相对湿度80%以上),并放入隔热箱中送回实验室。将含待测枝条和湿润滤纸的塑料袋放入30、38、43、48、53、58和63 °C的恒温水浴中热胁迫15 min,水浴锅同样黑暗处理。之后,在饱和激发光下测定叶绿素荧光动力学曲线并计算出其方程中的参数。暗适应叶片取健康成熟完整的叶片,每一处理取样量 n 为20。

采取相同的处理方式,将叶样放入30、34、38、43、48、53、58和63 °C的恒温水浴中热胁迫15 min。根据Somersalo和Krause (1989)的研究,外界提供的弱光适宜于植物叶片PSII的修复。因此,在恒温水浴过程中进行黑网弱光处理,采用LI-6400 (LI-COR, Lincoln, NE, USA)的外部量子传感器测定遮光后光强约为30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。15 min之后,

选取健康成熟叶用LI-6400提供的弱光30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 诱导40 min,之后再测量 P_n -CO₂曲线,每一处理取样量 n 为4。

1.3 试验方法

1.3.1 叶绿素荧光的测定和参数的计算

在室温25 °C下,叶片用暗适应夹预先暗适应20 min后用Handy PEA (Hansatech Ltd., King's Lynn, Northfolk, UK)提供的3 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的饱和和激发光照射叶片。天线色素吸收的能量(ABS/RC)、反应中心捕获的能量(TR_0/RC)、用于电子传递的能量(ET_0/RC)、用于热耗散的能量(DI_0/RC)、原初光化学反应的最大光化学效率(ΦP_0)、电子传递的量子产额(ΦE_0)、捕获的激子能导致电子传递的效率(ψ_0)、单位面积的光合机构被激活反应中心的数量(RC/CS)、放氧复合体(OEC)放氧活性(ρ_k)和叶片性能指数(PI_{ABS})等各项参数的计算参考Appenroth等(2001)的方法。

1.3.2 CO₂响应曲线的测量

以接近叶片饱和光强(1 700 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)为叶室的光强,设置叶室温度为25 °C,气流速率500 $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$,相对湿度50%,CO₂浓度梯度依次为400、300、200、150、100、50、20、0 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。按照各点测得的光合速率(P_n)与胞间CO₂浓度(C_i)值,绘制 P_n/C_i 曲线,曲线的初始部分 P_n 随 C_i 的增加而急增,计算初始部分斜率时选取前6个点拟合。

1.3.3 活性氧化剂含量的测定

选取水浴锅不同温度梯度处理后的健康成熟叶片,立即放入液氮罐中备用于测定活性氧化剂。氨态氮和超氧阴离子产生速率的测定按照中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所(2004)的方法。H₂O₂含量的测定按照Ferguson等(1983)的方法。

1.4 数据处理

作图采用Microsoft Office Excel 2003、Origin 8.0 (OriginLab Inc., Hampton, USA)和Photoshop (Adobe Inc., Sanjose, USA)进行。描述性统计用于计算重复取样的平均值和标准误差,平均值的标准误差用误差线表示。

2 结果和分析

2.1 荧光强度参数 F_v/F_m 日变化

从图1可以看出 F_v/F_m 日变化呈现“U”形,在

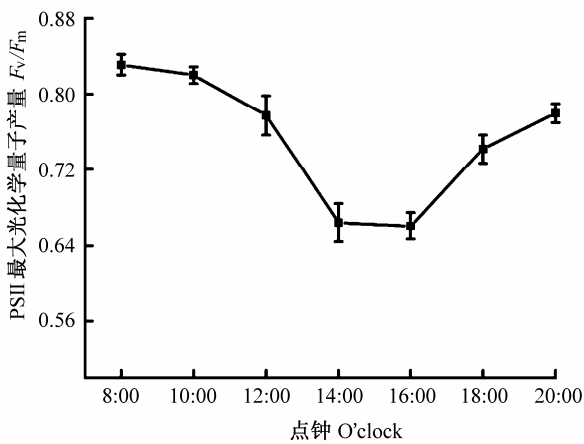


图1 骆驼刺叶片 F_v/F_m 日变化(平均值±标准误差)。
Fig. 1 Daily changes of the maximum photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m) of *Alhagi sparsifolia* leaves (mean ± SE).

14:00–16:00之间 F_v/F_m 值最低,到了18:00左右则可以恢复到12:00的水平。这与Björkman和Demmig (1987)、Zhou等(2010a, 2010b)研究自然光下植物叶片 F_v/F_m 的日变化结果相类似。

2.2 叶绿素荧光曲线及其方程参数

植物进行光合作用时,光合色素对光的吸收和转化起着重要的作用。色素分子的激发是光化学反应的第一步,而荧光作为色素被光激发后的产物之一,当植物体生长发育在适宜环境中,其值稳定。但当外界条件不利于叶片光合生理代谢时,荧光产量会发生明显的变化。充分暗适应的叶片突然暴露在强光下时,叶片发出的荧光在极短的时间内由最低值(F_0)达到一个最大值(F_m)。将标准的O-P荧光曲线在对数时间数轴上展开时,呈现明显的波段性,

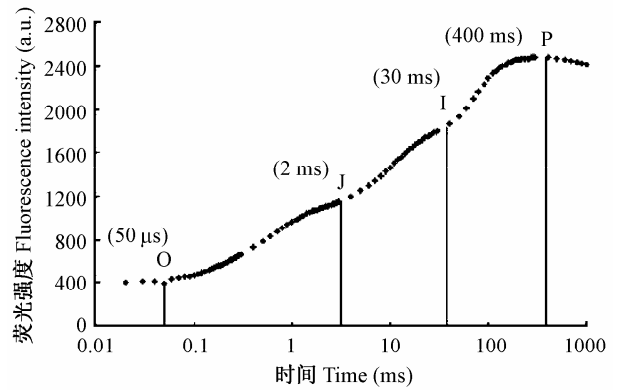


图2 骆驼刺正常叶片典型的多相叶绿素荧光上升曲线O-J-I-P。各点的含义详见李鹏民等(2005)。
Fig. 2 A typical chlorophyll polyphasic fluorescence rise O-J-I-P for an untreated *Alhagi sparsifolia* leaf. The meaning of each point referred Li *et al.* (2005).

也就是Strasser和Strasser (1995)定义的O-J-I-P快速叶绿素荧光动力学曲线(图2)。其中基于生物膜能量流动理论(Strasser, 1981)计算的各个波段点反应的生物学过程不尽相同。从图3可以看出,随着叶片温度的升高,叶片荧光强度发生明显的变化:初始荧光不断增大,在30–43 °C范围内增幅较小,超过43 °C之后明显增加;最大荧光值随温度增加而降低,在叶片温度超过43 °C后降幅明显变大;荧光曲线由起初的OJIP段逐渐变为OJP段, J-P段荧光变得越来越平缓。在58 °C荧光曲线的300 μs处出现明显的K点,之后,在63 °C时叶片失去活性,荧光强度不再随时间改变。

我们以30 °C的荧光参数值为基准值,依次计算各个温度下参数的升高或降低百分率。由表1可

表1 热胁迫对叶绿素荧光参数的影响(平均值±标准误差)

Table 1 Effects of heat stress on chlorophyll fluorescence parameters (mean ± SE)

处理 Treatment	初始荧光 F_0	最大荧光 F_m	可变荧光 F_v	PSII最大光化学量子产量 F_v/F_m
30 °C	435.70 ± 21.04 (0%)	2 455.70 ± 147.46 (0%)	2 020.00 ± 139.72 (0%)	0.83 ± 0.01 (0%)
38 °C	468.13 ± 24.13 (7.44%)	2 404.75 ± 134.34 (-2.07%)	1 936.63 ± 144.42 (-4.13%)	0.81 ± 0.02 (-2.41%)
43 °C	464.30 ± 27.45 (6.56%)	2 318.40 ± 114.85 (-5.59%)	1 854.10 ± 153.18 (-8.21%)	0.80 ± 0.01 (-3.61%)
48 °C	602.00 ± 33.20 (38.17%)	1 948.40 ± 103.69 (-20.66%)	1 346.40 ± 62.77 (-33.35%)	0.69 ± 0.06 (-16.87%)
53 °C	604.13 ± 33.42 (38.66%)	1 840.75 ± 89.03 (-25.04%)	1 236.63 ± 94.79 (-38.78%)	0.65 ± 0.10 (-21.69%)
58 °C	849.40 ± 38.11 (94.95%)	1 433.80 ± 69.32 (-41.61%)	584.40 ± 25.67 (-71.07%)	0.41 ± 0.10 (-50.60%)
63 °C	1 807.80 ± 40.02 (314.92%)	1 809.20 ± 106.7 (-26.33%)	1.40 ± 1.04 (-99.93%)	0.000 7 ± 0.000 1 (-99.92%)

括号内数值代表参数 F_m 、 F_v/F_m 、 F_v 和 F_0 基于30 °C值而计算的变化程度。

F_m , maximum fluorescence yield; F_0 , minimum fluorescence yield; F_v , variable fluorescence yield; F_v/F_m , maximum photochemical efficiency of PSII. Values in bracket are the changes of F_m , F_v/F_m , F_v as well as F_0 were calculated based on the initial values at 30 °C.

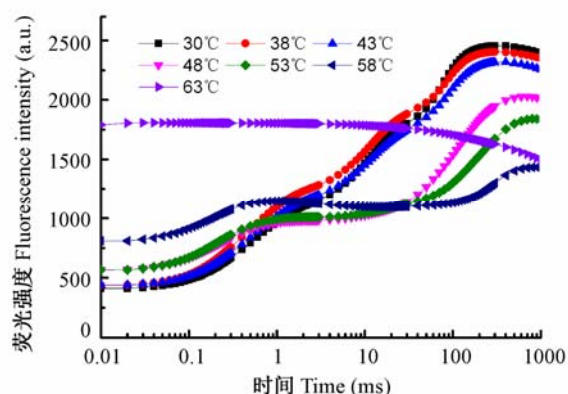


图3 不同温度处理下骆驼刺叶片荧光动力学曲线的变化。
Fig. 3 Changes in chlorophyll fluorescence induction curves in *Alhagi sparsifolia* leaves under different temperatures.

可以看出: 初始荧光 F_0 随着叶片温度的增加而迅速增大, 在48和58 °C时分别有较大幅度的明显上升; F_m 、 F_v 和 F_v/F_m 相比于30 °C对呈下降趋势, 相应的在48和58 °C时分别有较大的降低幅度。荧光参数在63 °C下均表现出异常的变化, 特别是 F_v/F_m 几乎为0, 表明该温度下叶片已经完全失去活性。

从图4A可以知道: 随着温度的升高, 总体来看参数 ABS/RC 、 TR_0/RC 、 ET_0/RC 和 DI_0/RC 均有不同程度的增加。而 RC/CS 随温度的升高不断减少。从PSII能量利用的角度来看(图4B), F_v/F_m 、 ΦE_0 、 ψ_0 、 ρ_k 和 PI_{ABS} 则随着温度的不断升高而降低。其中 ΦE_0 和 ψ_0 在38–48 °C有所增加, ψ_0 增加的幅度明显, ρ_k 在38 °C时略有增加。

2.3 羧化效率

由图5看出, 随着温度的升高, 羧化效率先增加后降低, 在34 °C时羧化效率最大, 48 °C时羧化效率最小, 几乎为0, 并且该温度下光合速率一直处于负值, 说明RuBP羧化酶的结构和功能发生紊乱, 处于失活状态。

2.4 活性氧和氨态氮

由图6可以看出, 随着温度的上升, 骆驼刺叶片细胞内超氧阴离子、 H_2O_2 和氨态氮的含量不断增加。

3 讨论

3.1 热胁迫对PSII的影响

最小荧光(F_0)的大小主要与PSII天线色素内的最初被激发的电子密度、天线色素之间以及天线色素到PSII反应中心的激发能传递的结构状态有关

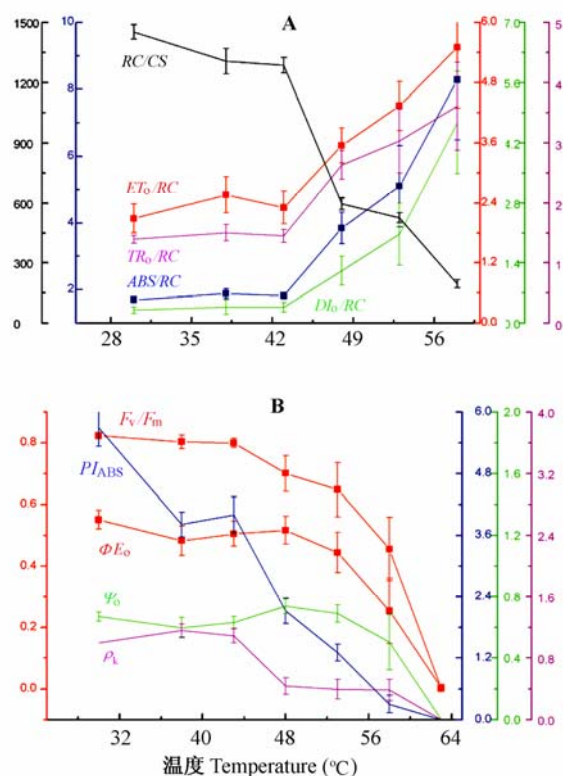


图4 热胁迫对骆驼刺叶片PSII能量流动(A)和能量利用效率(B)的影响(平均值±标准误差)。图中曲线的颜色与纵坐标颜色相对应。 ABS/RC , 天线色素吸收的能量; DI_0/RC , 用于热耗散的能量; ET_0/RC , 用于电子传递的能量; F_v/F_m , PSII最大光化学量子产量; PI_{ABS} , 叶片性能指数; RC/CS , 单位面积的光合机构被激活反应中心的数量; TR_0/RC , 反应中心捕获的能量; ρ_k , 放氧复合体放氧活性; ΦE_0 , 电子传递的量子产量; ψ_0 , 捕获的激发能导致电子传递的效率。
Fig. 4 Effects of heat stress on PSII energy flux (A) and energy use efficiency (B) of *Alhagi sparsifolia* leaves (mean \pm SE). In graph the color of curve is correspondence with the color of y-axis. The specific energy fluxes (per reaction centers, RC) for absorption (ABS/RC), trapping (TR_0/RC), electron transport (ET_0/RC) and dissipation (DI_0/RC); the flux ratios or yield, i.e. the maximum quantum yield of primary photochemistry (F_v/F_m), the efficiency with which a trapped exciton can move an electron into the electron transport chain further than O_A- (ψ_0), and the quantum yield of electron transport (ΦE_0); the fraction of O₂ evolving centers in comparison with the control sample (ρ_k); the amount of active PSII reaction centers per excited cross section (RC/CS), and the performance index (PI_{ABS}).

(Kranse & Weis, 1984; Costa *et al.*, 2002), 因此其荧光强度的大小表征着天线色素与PSII反应中心之间能量传递的畅通程度。同时, 其大小也受到还原性 Q_A 蛋白积累的影响(Mathur *et al.*, 2011), 主要与激发光的强度、捕光色素系统结构和功能有关, 是一个纯物理过程, 所以可以说明植物体PSII受到的胁迫造成的损伤程度, 作为表征光合组分的生理结构和功能正常与否的量化指标。随着骆驼刺叶片温度

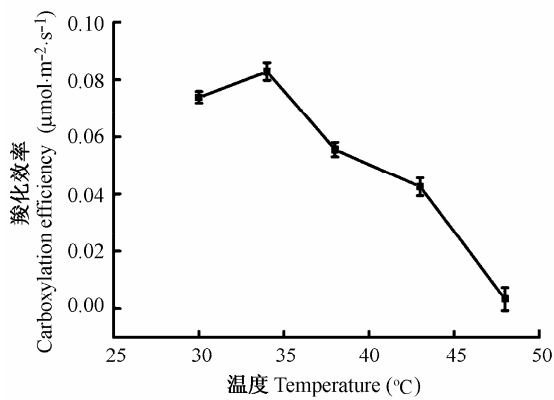


图5 高温胁迫对骆驼刺叶片RuBP羧化效率的影响(平均值±标准误差)。计算初始斜率时采用前6个点进行拟合。
Fig. 5 Effects of elevated temperature on RuBP carboxylation efficiency of *Alhagi sparsifolia* leaves (mean ± SE). Parameters of linear fitting based on the initial stage of P_n-C_i cruves which only contains the six foremost data points.

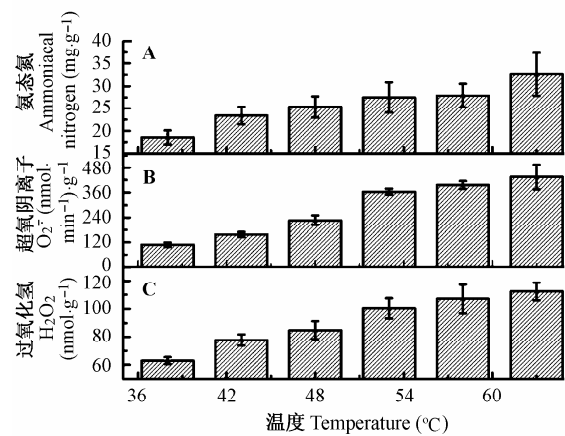


图6 热胁迫对疏叶骆驼刺叶片中氨态氮(A)、活性氧分子 O_2^- (B)和 H_2O_2 (C)的影响(平均值±标准误差)。
Fig. 6 Effects of heat stress on ammoniacal nitrogen (A) and reactive oxygen molecules O_2^- (B) and H_2O_2 (C) concentration of *Alhagi sparsifolia* leaves (mean ± SE).

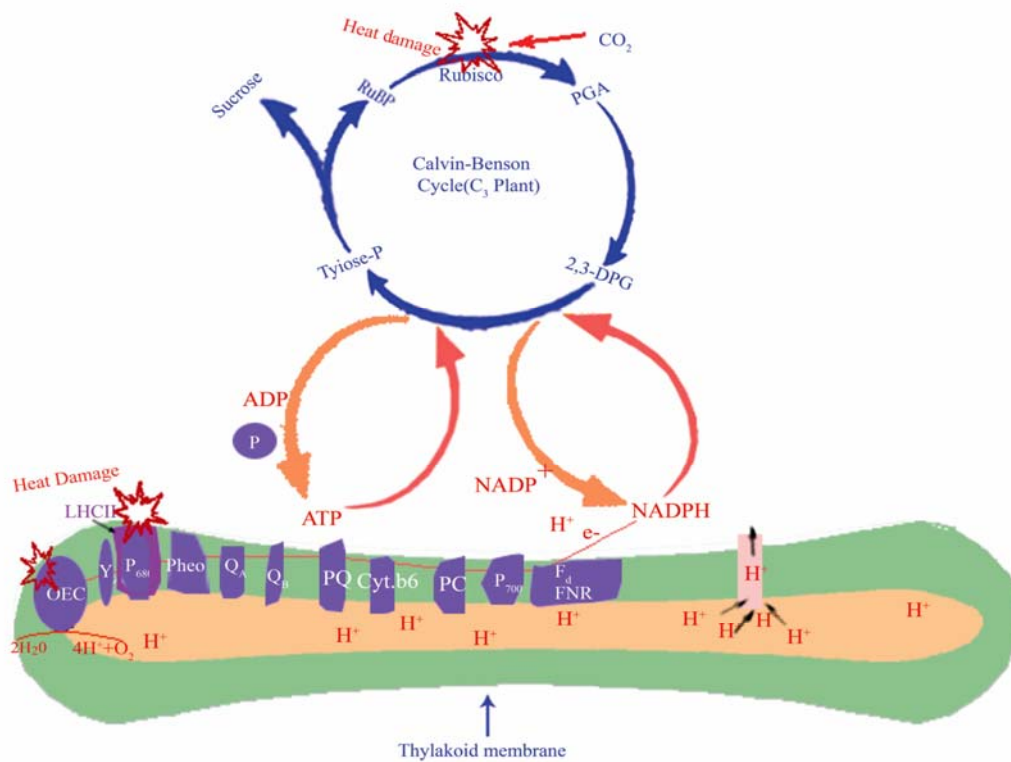


图7 光合系统主要的热胁迫伤害位点(绘制结构参考于http://i.hudong.com/profile.do?userid=nfEACAwQFWUICDQJ_和http://tupian.hudong.com/a3_42_21_01300000332400124108219709521_jpg.html)。但光合反应的生理学过程经过了本文作者思考加工)。2,3-DPG, 二磷酸甘油酸; Cyt.b6, 细胞色素b₆-f复合物; F_d, 铁氧还原蛋白; LHCII, 光系统II捕光色素系统; OEC, 放氧复合体; P680, 光系统II反应中心色素; P700, 光系统I反应中心色素; PC, 质体蓝素; PGA, 磷酸甘油酸; Pheo, 去镁叶绿素; PQ, 质体醌; Q_A, 初级醌受体; Q_B, 次级醌受体; Sucrose, 蔗糖; Tyiose-P, 磷酸丙糖; Y_z, 原初电子供体。
Fig. 7 The heat damaged parts of photosynthesis which includes light reaction phase mainly PSII and dark reaction phase under high temperature. When green leaves were exposed to high temperature (e.g. over 43 °C), three important components given above oxygen evolving complex (OEC), light-harvesting system and Rubisco were more vulnerable than others components. 2,3-DPG, 2, 3-diphosphoglycerate; Cyt.b6, cytochrome b₆-f complex; F_d, ferredoxin; LHCII, light-harvesting complex in photosystem II; P680, PSII reaction centre; P700, photosystem I reaction centre; PC, plastocyanin; PGA, phosphoglycerate; Pheo, pheophytin; PQ, plas-toquinone; Q_A, the primary quinone acceptor; Q_B, the secondary quinone acceptor; Tyiose-P, triose phosphate; Y_z, tyrosine Z.

的升高, F_0 值明显增大, 说明捕光色素复合物(LHCI)结构发生异化, 捕获光量子的能力逐渐降低, 同时可以说明捕光色素把光量子所带来的能量在传递给PSII反应中心的过程受阻。随着叶片温度的上升, LHCII裂解速度逐渐加快, 在叶片温度达到48 °C时, 尤为明显, 当叶片温度达到58 °C时LHCII发生不可逆的功能性失活。最大荧光 F_m 值是PSII反应中心处于完全关闭时的荧光产量, 可反映通过PSII的电子传递情况(Krause & Weis, 1991)。 F_m 值的降低说明PSII有活性反应中心的下降, 在48和58 °C时尤为显著。 F_v/F_m 代表了PSII的原初光能转化学效率, 是研究光合生理状态的重要参数。随着叶片温度的增加, F_v/F_m 值降低, 在48和58 °C时尤为显著, 虽然骆驼刺在长期的进化过程中叶形态和水分生理都已经适应了荒漠夏季极端干旱高温的天气, 但是在叶片遭受高温胁迫时, PSII活性仍然是脆弱的环节, 这一点从 F_v/F_m 的日变化进程中也可以说明。

Strasser和Strasser (1995)以生物膜能量流动为基础, 通过计算PSII各个结构间的能量流和能量比率来衡量在给定物理状态下样品材料内部的变化, 建立了大为简化的能量流动模型。 ABS/RC 、 TR_0/RC 、 ET_0/RC 和 DI_0/RC 均随着叶片温度的上升而增加, 但 RC/CS 降低。在热胁迫下PSII反应中心往往发生可逆失活, 这些失活的反应中心可能只是作为一个能量陷阱, 只吸收光能但不将吸收的光能传递到电子传递链中, 一旦逆境解除, 失活的反应中心又恢复活性, 从荧光的日变化中也可以说明这一点。 ψ_0 反映了反应中心捕获的激子能将电子传递到电子传递链中超过 Q_A 的其他电子受体的概率(包括PSI); ΦE_0 反映了反应中心捕获的光能将电子传递到电子传递链中 Q_A 后面的其他电子受体的概率(包括PSI)。两个参数随着叶片温度的变化与 RC/CS 的变化不同, 在48 °C以后才降低, 说明高温导致有活性的反应中心数目下降, 但剩余的有活性的反应中心的效率略有提高, 从而更好地消耗掉叶片中过剩的激发能。在植物叶片经过充分暗适应后, PSII受体侧的电子受体 Q_A 、 Q_B 和PQ等均完全失去电子而呈氧化态(Guissé *et al.*, 1995)。此时PSII的电子受体侧接受电子的能力最大, PSII反应中心可最大限度地接受光量子。参数 ΦE_0 和 ψ_0 随温度的变化表明PSII电子受体在中等温度下仍具有较高的氧化能力, Q_A 后面的

电子传递链对温度的敏感性要小于PSII电子供体侧的电子传递链。这一点可以从 ΦP_0 (反映了暗适应后的PSII反应中心的最大光化学效率, 其测定与调制式荧光仪的参数 F_v/F_m 的测定相一致)随叶片温度不断降低得到说明。同时, PSII供体侧的OEC放氧活性 ρ_k 在38 °C以后下降的特性亦可以说明。有研究表明K点的出现是由于水裂解系统被抑制和 Q_A 之前受体侧的部分被抑制所造成的(Guissé *et al.*, 1995; Strasser *et al.*, 2004)。在此抑制过程中, 受伤害的是OEC放氧功能, 所以K点可以作为OEC放氧活性受伤害的一个特殊标记(Mathur *et al.*, 2011)。在30–43 °C荧光曲线300 μs (K点)的荧光产量逐渐增加, 但是在48 °C高温处理后K点荧光产量明显增加, 说明PSII电子供体OEC的放氧活性受到严重的热伤害, 电子供应受到抑制, 这与图3B ρ_k 曲线在43 °C后的明显降低相对应。反映叶片活力的性能指数 PI 包含3个参数(RC/ABS 、 ΦP_0 和 ψ_0), 这3个参数相互独立, 所以性能指数可以更准确地反映植物光合机构的状态(Appenroth *et al.*, 2001)。从变化趋势上看随着温度的增加, PI 和 F_v/F_m 值都降低, 但是前者降低的幅度要明显大于后者, 因此我们认为性能指数 PI 能更好地反映热胁迫对PSII的影响。

3.2 热胁迫对羧化效率的影响

参数 F_v/F_m 的日变化表明在极端环境条件下骆驼刺叶片的光合系统, 特别是PSII在受到非生物胁迫抑制时, 如果外界条件适宜(适宜的光强、温度和湿度), 抑制解除, 则骆驼刺PSII可以在很短的时间内恢复正常活性。Zhang等(2010)分别利用气体交换和荧光技术研究臭氧胁迫下忍冬(*Lonicera japonica*)叶片的羧化效率和光化学效率, 结果表明臭氧胁迫下叶片卡尔文循环和光合电子传递均受到抑制。Stasik和Jones (2007)亦应用 CO_2 响应曲线方法来推测Rubisco活性。因此, 我们对热胁迫叶片进行弱光诱导后测羧化效率的过程可以排除PSII活性改变的干扰, 可以更好地反映热胁迫下光合速率的改变是否与卡尔文循环过程(如Rubisco活性)的变化有关。高温往往导致植物体生理代谢异常, 其中高温破坏蛋白质活性是生化损害的多种形式的一种, 会直接引起叶片内蛋白质的变性和失活。叶片温度越高, 蛋白质的伤害程度也越严重。当外界光强接近叶片光饱和点对应的光强以及Rubisco活化程度很高时, CO_2 响应曲线的起始斜率决定了叶片的羧化

能力,同时起始斜率又反映出Rubisco的活化状态(Lambers *et al.*, 1998)。在30–43 °C, F_v/F_m 没有明显的降低,38 °C时OEC放氧活性指数 ρ_k 最高以及叶片温度处于30–48 °C ψ_o 和 ΦE_o 不断升高,说明PSII在此温度区间内仍然可以提供足够的高能电子,进过光合磷酸化途径产生足够的ATP和NADPH,用于卡尔文循环RuBP的再生,但是羧化效率却明显的降低,反映出在此温度下(30–43 °C) RuBP羧化酶活性是降低的。另外, von Caemmerer等(1994)表明当植物叶片的RuBP羧化酶含量降低到原初含量的34%时,其他光合成分(如RuBP再生)与正常株相比并不表现出明显的低的差异,说明在整个光合反应过程中相对高的RuBP羧化酶活性对于维持光合速率的稳定起着重要的作用。在中等温度胁迫甚至高温下RuBP羧化酶活性的降低亦是导致光合速率下降的主要因素。因此, RuBP羧化酶活性程度可以作为筛选抗热性品种指标。

3.3 热胁迫对活性氧分子浓度的影响

在正常的生长环境中,植物依靠良好的非酶保护系统和酶保护系统来清除活性氧,防止氧化物质的大量积累,从而更好地保护和维持细胞膜的稳定性。但是植物在受到不良的非生物胁迫时这种动态的活性氧产生与清除之间的平衡往往会被打破,造成 O_2^- 、 H_2O_2 等活性氧化剂的积累。当活性氧分子浓度低时,可以诱导防御基因的表达,参与植物生理代谢抗逆性的启动过程(Foyer & Noctor, 2005)。但活性氧分子浓度超过植物生理耐受的上限时,便会对细胞产生伤害。有研究表明,叶片活性氧分子的不断积累,与类囊体膜上光合系统的结构和功能的降低有非常密切的关系(op den Camp *et al.*, 2003)。高含量的活性氧化剂会引起膜脂过氧化作用,导致膜蛋白与膜内脂的破坏,进而破坏类囊体膜上的光合器官的结构和功能。过高温度还能致使蛋白质凝固和导致有害代谢产物的积累(如蛋白质分解时氨的积累),而使植物中毒(蒋高明, 2007)。如果活体组织中的 NH_4^+ 积累到一个高水平,将会对植物组织产生危害,不能及时转化硝基的 NH_4^+ 将破坏跨膜质子梯度(Bloom, 1997),而植物叶片光合作用的电子传递反应的速率常数 k_{et} 值与质子梯度诱导形成的跨膜电势($\Delta\psi$)密切相关(Lazár & Schansker, 2009)。因此,氨态氮物质的积累将导致叶绿体内腔和基质的跨膜电势的减弱,降低电子传递的速率常数 k_{et} 值,进

而影响电子在电子传递链的传递效率。

我们观察发现,随着景观由绿洲向沙漠的转变,骆驼刺群落逐渐减少,其中,在距离策勒绿洲西边10 km的沙漠区几乎没有骆驼刺生长。据Lichtenthaler (1998)介绍,影响陆地植被生长发育的自然胁迫因子主要有强辐射、高温、低温、霜冻、干旱、土壤矿物质亏缺、长期降雨、虫害和细菌/真菌/滤过性毒菌。在温带干旱区,强辐射、高温、干旱和盐分是不利于植物正常生长发育的主要自然因子。Bruehlheide等(2010)研究表明,策勒地区地势南高北低,地下水埋深由策勒县城的17.15 m向北部渐变为3.5 m。而我们的资料表明,生长在干旱区的骆驼刺具有发达的根系,2年生植株根可达5 m和17个克隆分株。Li等(2002)指出在塔克拉玛干沙漠南缘炎热夏季,干旱胁迫造成的水分亏缺并未影响骆驼刺正常的蒸腾作用,干旱并未威胁到植被的存在。从水分利用的角度来看,水分亏缺并不是造成沙漠区骆驼刺减少的原因。骆驼刺幼苗有较强的耐盐性和适盐能力,能够在中等浓度($150\text{--}250\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 电导值 $6.33\text{--}9.52\text{ ms}\cdot\text{cm}^{-1}$)的盐分环境中生存(Zeng *et al.*, 2008)。Zhu和Yang (2007)测定策勒河中游河水、和田绿洲和沙漠腹地的电导率分别为1.18、1.88和 $6.73\text{ ms}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。从盐胁迫的角度可以知道盐分不是限制骆驼刺生长和繁殖的环境因子。我们实测8月份最高光合有效辐射强度为 $1\ 785\ \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$,而骆驼刺光饱和点约为 $1\ 982\ \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$,因此光强过高不是阻碍骆驼刺正常光合途径的因子。邓雄等(2002)研究表明,骆驼刺6月份的光合速率日变化为双峰曲线,低谷值出现在13:00,在14:00–16:00时间段内叶片温度高于气温,最高气温约为38 °C,而光合有效辐射强度远低于光饱和点。综合上述分析,虽然骆驼刺经过长期驯化适应后形成了具有一定功效的胁迫忍耐机制,但在炎热的夏季正午时分骆驼刺叶片短时间内暴露在高温条件下,往往会导致细胞活性的降低,造成相关的光合蛋白酶损伤。高温外加强辐射时,即使辐射不很强,光合器官也特别容易受到破坏。沙埋是生长在干旱和半干旱区内陆沙丘的植物经常遭遇的事件,高强度沙埋会削弱植物的生长,甚至影响植物的存活(刘凤红等, 2006)。在沙漠区域夏季的地表温度可以达到70 °C以上,高温或者高温和强光胁迫可能是限制骆驼刺在沙漠区域生长的主要因素。

4 结论

在稍高于光合适宜温度的中高温下, PSII 发生可逆失活, 但在重度热胁迫下, PSII 会发生永久性损伤。随着骆驼刺叶片温度的升高, 参数 F_o 值增加和 F_v/F_m 、 RC/CS 、 PI_{ABS} 等降低。在中高温下 PSII 供体侧比受体侧组分更容易受到热胁迫的伤害, 特别是 PSII 反应中心, 其次是放氧复合体的放氧功能。最小荧光 F_o 主要与激发光的强度、捕光色素系统结构和功能有关, 是一个纯物理过程, 可以说明植物体 PSII 受到的胁迫损伤程度, 作为表征热胁迫条件下叶片光合组分生理结构和功能正常与否的量化指标。随着叶片温度的上升, RuBP 羧化酶活性先增加后降低, 在 34 °C 时具有最高的活性水平, 48 °C 下 RuBP 羧化酶结构遭到破坏, 造成碳同化阶段羧化功能的丧失。在本实验中我们可以得出: 当植物叶片受到热胁迫时, 其光合作用的光反应和暗反应阶段均受到不同程度的损伤, 其中 PSII 和 RuBP 羧化酶活性是主要的热敏感位点(图7)。在塔克拉玛干沙漠区域内, 高温可能是限制骆驼刺广布的重要因素。对充分暗适应的叶片给予高温处理时, 细胞内氨态氮和活性氧分子浓度显著增加。

通常, 在较短的时间内, 如果叶片温度高出其生长适宜温度 10–15 °C 时往往会造成热胁迫, 导致生理代谢的紊乱(Wahid *et al.*, 2007)。而骆驼刺叶片温度超过 43 °C 后, F_o 和 F_v/F_m 、 RC/CS 、 PI_{ABS} 等 PSII 荧光指标分别出现明显的升高和降低; 在 34 °C 时 RuBP 羧化酶活性水平最高。因此, 我们认为叶片温度 34 °C 是骆驼刺光合作用的最适温度以及正常生长温度。

致谢 国家重点基础研究发展计划(2009CB-421303)、新疆维吾尔自治区科技支撑计划项目(200933125)、国家科技支撑项目(2009BAC54B03)和中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX2-YW-431)联合资助。感谢中国科学院新疆生态与地理研究所曾凡江研究员、桂东伟博士、刘国军博士、黄彩变博士、鲁艳博士、博士生李海峰及硕士生刘振、张立刚和高欢欢在室内分析工作中给予的帮助。

参考文献

Appenroth KJ, Stöckel J, Srivastava A, Strasser RJ (2001). Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. *Environmental*

Pollution, 115, 49–64.

- Björkman O, Demmig B (1987). Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170, 489–504.
- Bloom AJ (1997). Nitrogen as a limiting factor: crop acquisition of ammonium and nitrate. In: Jackson LE ed. *Ecology in Agriculture*. Academic Press, San Diego, USA. 145–172.
- Bruelheide H, Vonlanthen B, Jandt U, Thomas FM, Foetzki A, Gries D, Wang G, Zhang XM, Runge M (2010). Life on the edge—to which degree does phreatic water sustain vegetation in the periphery of the Taklamakan Desert? *Applied Vegetation Science*, 13, 56–71.
- Čajánek M, Štroch M, Lachetová I, Kalina J, Spunda V (1998). Characterization of the photosystem II inactivation of heat-stressed barley leaves as monitored by the various parameters of chlorophyll a fluorescence and delayed fluorescence. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 47, 39–45.
- Costa ES, Bressan-Smith R, Oliveira JG, Campostrini E, Pimentel C (2002). Photochemical efficiency in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. Walp) during recovery from high temperature stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14, 105–110.
- Crafts-Brandner SJ, Salvucci ME (2002). Sensitivity of photosynthesis in a C_4 plant, maize, to heat stress. *Plant Physiology*, 129, 1773–1780.
- Deng X (邓雄), Li XM (李小明), Zhang XM (张希明), Ye WH (叶万辉), Zhao Q (赵强) (2002). Relationship between gas exchange of four desert plants and environmental factors in Taklamakan. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* (应用与环境生物学报), 8, 445–452.
- Ferguson IB, Watkins CB, Harman JE (1983). Inhibition by calcium of senescence of detached cucumber cotyledons: effect on ethylene and hydroperoxide production. *Plant Physiology*, 71, 182–186.
- Foyer CH, Noctor G (2005). Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell & Environment*, 28, 1056–1071.
- Guissé B, Srivastava A, Strasser RJ (1995). The polyphasic rise of the chlorophyll a fluorescence (O-K-J-I-P) in heat-stressed leaves. *Archives des Sciences Genève*, 48, 147–160.
- Haldimann P, Feller U (2004). Inhibition of photosynthesis by high temperature in oak (*Quercus pubescens* L.) leaves grown under natural conditions closely correlates with a reversible heat-dependent reduction of the activation state of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Plant, Cell & Environment*, 27, 1169–1183.

- Institute of Plant Physiology & Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences (中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所) (2004). *Experimental Guide of Modern Plant Physiology* (现代植物生理学实验指南). Science Press, Beijing. 138–309. (in Chinese)
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) (2007). *Climate Change: Impacts, Adaptation and Vulnerability: Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Jiang GM (蒋高明) (2007). *Plant Ecophysiology* 2nd edn (植物生理生态学第二版). Higher Education Press, Beijing. 178–179. (in Chinese)
- Komayama K, Khatoon M, Takenaka D, Horie J, Yamashita A, Yoshioka M, Nakayama Y, Yoshida M, Ohira S, Morita N, Velitchkova M, Enami I, Yamamoto Y (2007). Quality control of photosystem II: cleavage and aggregation of heat-damaged D1 protein in spinach thylakoids. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 1767, 838–846.
- Krause GH, Weis E (1984). Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynthesis Research*, 5, 139–157.
- Krause GH, Weis E (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42, 313–349.
- Kubien DS, Sage RF (2008). The temperature response of photosynthesis in tobacco with reduced amounts of Rubisco. *Plant, Cell & Environment*, 31, 407–418.
- Lambers H, Chapin FS, Pons TL (1998). *Plant Physiological Ecology*. Springer-Verlag, New York. 8–68.
- Lazár D, Schansker G (2009). Models of chlorophyll a fluorescence transients. In: Laisk A, Nedbal L, Govindjee eds. *Photosynthesis in Silico: Understanding Complexity from Molecules to Ecosystems*. Springer, Dordrecht, the Netherlands. 85–123.
- Li PM (李鹏民), Gao HY (高辉远), Strasser RJ (2005). Application of the fast chlorophyll fluorescence induction dynamics analysis in photosynthesis study. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学学报), 31, 559–566. (in Chinese with English abstract)
- Li XY, Zhang XM, Zeng FJ, Foetzki A, Thomas FM, Li XM, Runge M, He XY (2002). Water relations on *Alhagi sparsifolia* in the southern fringe of Taklamakan Desert. *Acta Botanica Sinica*, 44, 1219–1224.
- Lichtenthaler HK (1998). The stress concept in plants: an introduction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 851, 187–198.
- Liu FH (刘凤红), Ye XH (叶学华), Yu HF (于飞海), Dong M (董鸣) (2006). Clonal integration modifies responses of *Hedysarum laeve* to local sand burial in MU Us sandland. *Journal of Plant Ecology (Chinese Version)* (植物生态学报), 30, 278–285. (in Chinese with English abstract)
- Mathur S, Jajoo A, Mehta P, Bharti S (2011). Analysis of elevated temperature-induced inhibition of photosystem II using chlorophyll a fluorescence induction kinetics in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Plant Biology*, 13, 1–6.
- Musil CF, van Heerden PDR, Cilliers CD, Schmiedel U (2009). Mild experimental climate warming induces metabolic impairment and massive mortalities in southern African quartz field succulents. *Environmental and Experimental Botany*, 66, 79–87
- op den Camp RGL, Przybyla D, Ochsenbein C, Laloi C, Kim CH, Danon A, Wagner D, Hideg É, Göbel C, Feussner I, Nater M, Apel K (2003). Rapid induction of distinct stress responses after the release of singlet oxygen in arabidopsis. *The Plant Cell*, 15, 2320–2332.
- Oukarroum A, Madidi SE, Schansker G, Strasser RJ (2007). Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLCJIP under drought stress and re-watering. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 438–446.
- Pospíšil P, Šnrychová I, Nauš J (2007). Dark production of reactive oxygen species in photosystem II membrane particles at elevated temperature: EPR spin-trapping study. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 1767, 854–859.
- Schreiber U, Berry JA (1977). Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in intact leaves correlated with damage of the photosynthesis apparatus. *Planta*, 136, 233–238.
- Sharkey TD (2005). Effects of moderate heat stress on photosynthesis: importance of thylakoid reactions, Rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. *Plant, Cell & Environment*, 28, 269–277.
- Shi YF (施雅凤), Shen YP (沈永平) (2003). Signa, impact and outlook of climatic shift from warm-dry to warm-humid in Northwest China. *Science and Technology Review* (科技导报), (2), 54–57. (in Chinese)
- Somersalo S, Krause GH (1989). Photoinhibition at chilling temperature: fluorescence characteristics of unhardened and cold-acclimated spinach leaves. *Planta*, 177, 409–416.
- Stasik O, Jones HG (2007). Response of photosynthetic apparatus to moderate high temperature in contrasting wheat cultivars at different oxygen concentrations. *Journal of Experimental Botany*, 58, 2133–2143.
- Strasser BJ, Strasser RJ (1995). Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test. In: Mathis P ed. *Photosynthesis: From Light to Biosphere*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. 977–980.
- Strasser RJ (1981). The grouping model of plant photosynthe-

- sis: heterogeneity of photosynthetic units in thylakoids. In: Akoyunoglou G ed. *Photosynthesis III. Structure and Molecular Organisation of the Photosynthetic Apparatus*. Balaban International Science Service, Philadelphia. 727–737.
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Srivastava A (2004). Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou GC, Govindjee eds. *Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis (Advances in Photosynthesis and Respiration)*. Springer, Dordrecht, the Netherlands. 321–362.
- Tang YL, Chen M, Xu YN, Kuang TY (2007). Changes in thermostability of photosystem II and leaf lipid composition of rice mutant with deficiency of light-harvesting chlorophyll a/b protein complexes. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49, 515–522.
- van Heerden PDR, Strasser RJ, Krüger GHJ (2004). Reduction of dark chilling stress in N₂-fixing soybean by nitrate as indicated by chlorophyll a fluorescence kinetics. *Physiologia Plantarum*, 121, 239–249.
- van Heerden PDR, Tsimilli-Michael M, Krüger GHJ, Strasser RJ (2003). Dark chilling effects on soybean genotypes during vegetative development: parallel studies of CO₂ assimilation, chlorophyll a fluorescence kinetics O-J-I-P and nitrogen fixation. *Physiologia Plantarum*, 117, 476–491.
- von Caemmerer S, Evans JR, Hudson GS, Andrews TJ (1994). The kinetics of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase *in vivo* inferred from measurements of photosynthesis in leaves of transgenic tobacco. *Planta*, 195, 88–97.
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad MR (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61, 199–223.
- Wise RR, Olson AJ, Schrader SM, Sharkey TD (2004). Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown pima cotton plants at high temperature. *Plant, Cell & Environment*, 27, 717–724.
- Xu DQ (许大全), Shen YG (沈允钢) (1998). *Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学). Science Press, Beijing. 262–276. (in Chinese)
- Yin Y, Li SM, Liao WQ, Lu QT, Wen XG, Lu CM (2010). Photosystem II photochemistry, photoinhibition, and the xanthophyll cycle in heat-stressed rice leaves. *Journal of Plant Physiology*, 167, 959–966.
- Zeng J, Zeng FJ, Arndt SK, Guo HF, Yan HL, Xing WJ, Liu B (2008). Growth, physiological characteristics and ion distribution of NaCl stressed *Alhagi sparsifolia* seedlings. *Chinese Science Bulletin*, 53, 169–176.
- Zhang L, Xu H, Yang JC, Li WD, Jiang GM, Li YG (2010). Photosynthetic characteristics of diploid honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) and its autotetraploid cultivar subjected to elevated ozone exposure. *Photosynthetica*, 48, 87–95.
- Zhou HH, Chen YN, Li WH, Chen YP (2010a). Photosynthesis of *Populus euphratica* in relation to groundwater depths and high temperature in arid environment, northwest China. *Photosynthetica*, 48, 257–268.
- Zhou SB, Liu K, Zhang D, Li QF, Zhu GP (2010b). Photosynthetic performance of *Lycoris radiata* var. *radiata* to shade treatments. *Photosynthetica*, 48, 241–248.
- Zhu BQ, Yang XP (2007). The ion chemistry of surface and ground waters in the Taklamakan Desert of Tarim Basin, western China. *Chinese Science Bulletin*, 52, 2123–2129.

责任编辑: 蒋高明 责任编辑: 李 敏